Aus der Medizinischen Universitätsklinik Erlangen
Direktor: Prof. Dr. med. N. HENNING

Vergleichende Untersuchungen über Resorption und Metabolismus von 5-Hydroxytryptophan und Serotonin bei oraler und rektaler Applikation

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Doktorwürde
der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Friedrich-Alexander-Universität
zu
Erlangen - Nürnberg 1963

vorgelegt von
Friedrich Bauer
aus Emskirchen
1962

1963 № 129

Gedruckt mit Erlaubnis der Medizinischen Fakultät
der Universität Erlangen – Nürnberg

Dekan: Prof. Dr. med. G. Theissing
Referent: Prof. Dr. med. N. Henning

Tag der mündl. Prüfung: 30. 10. 1963

Zeitschrift für die gesamte experimentelle Medizin 136, 630—635 (1963)

Aus der Medizinischen Klinik der Universität Erlangen-Nürnberg
(Direktor: Prof. Dr. N. Henning)

Vergleichende Untersuchungen über Resorption und Stoffwechsel von 5-Hydroxy-Tryptophan und Serotonin bei oraler und rectaler Applikation*

Von
E. Schmid, F. Bauer und H. Schön

Mit 3 Textabbildungen

(Eingegangen am 12. September 1962)

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

* Der Deutschen Forschungsgemeinschaft danken wir für die Gewährung einer Sachbeihilfe.

Im Tierexperiment und in Versuchen am Menschen wurde für zahlreiche Arzneimittel der Nachweis erbracht, daß sie bei rectaler Applikation in ausreichender Menge resorbiert werden können. Ähnliche Versuche mit Proteinen und Peptiden führten dagegen, von empfindlichen immunologischen Methoden abgesehen, zu negativen Ergebnissen[7,9,12]. Für Aminosäuren wurde auf Grund von Stickstoffbilanzuntersuchungen eine gute Resorption durch die Dickdarmschleimhaut angenommen[1,12], jedoch wurde später beobachtet, daß der Aminosäurespiegel im Blut nach rectaler Applikation hoher Histidindosen nicht, nach anderen Aminosäuren nur gering ansteigt[21].

Für die Indolderivate 5-Hydroxy-Tryptophan (5-HTP) und 5-Hydroxy-Tryptamin (5-HT) wurde in den letzten Jahren eine rasche Resorption und Umsetzung nach Zufuhr per os nachgewiesen, wobei das Abbauprodukt 5-Hydroxy-Indolessigsäure (5-HIE) quantitativ in den Harn übergeht[6,11,13,15,20]. Wegen ihrer engen chemischen Verwandtschaft zur essentiellen Aminosäure Tryptophan und zu Indolderivaten, die durch bakterielle Tätigkeit im Darm entstehen, schienen vergleichende Untersuchungen über Resorption und Stoffwechsel dieser beiden Substanzen nach oraler und rectaler Zufuhr von Interesse.

Methodik

Versuchspersonen waren 70 Klinikpatienten, bei denen organische Erkrankungen des Magen-Darmtraktes und der Leber, sowie Herz- und Nierenkrankheiten ausgeschlossen worden waren.

20 Probanden erhielten morgens 100 mg d,l-5-Hydroxy-Tryptophan** in 250 ml Tee in nüchternem Zustand. Bei fünf Versuchspersonen wurde die gleiche Menge der

** Bezogen von der MANN Research Co., New York.

Aminosäure nach vorhergehendem Reinigungseinlauf als Verweilklysma, bei weiteren fünf Personen als dreistündige Tropfinfusion über eine in das Sigmoid eingeführte Sonde verabreicht.

15 Versuchspersonen nahmen nüchtern 75 mg 5-Hydroxy-Tryptamin-Kreatininsulfat*, entsprechend 32 mg der 5-HT-Base, per os ein; 12 Probanden wurden gleiche Dosen des Amins als Klysma zugeführt. Schließlich verabreichten wir bei 18, 17 bzw. 15 Patienten drei Suppositorien (A, B und C) mit unterschiedlicher Zäpfchengrundmasse, die jeweils 100 mg 5-HT-Kreatininsulfat enthielten. Jeder Versuchsperson wurde dabei in zwei- bis dreitägigen Intervallen je eines der Suppositorien zugeführt.

Subjektive Symptome oder objektivierbare Reaktionen von seiten des Herz-Kreislaufsystems und des Magen-Darmtraktes, wie sie bei intravenöser Zufuhr von 5-HT oder 5-HTP beobachtet werden[14,16], traten in keinem Fall auf.

Der Harn wurde am Vortage während 24 Std gesammelt. Am Belastungstag wurden drei Sammelperioden zu je 4 Std eingehalten, der Nachtharn wurde in den folgenden 12 Std nochmals getrennt aufgefangen. Bananen, Nüsse und Pharmaka, welche die Hydroxy-Indolessigsäure-Bestimmung beeinflussen können, wurden für die Dauer der Versuche vermieden. Im Harn wurde die Hydroxy-Indolessigsäure nach Udenfriend und Mitarbeitern[22,24] in der von Schön und Mitarbeitern[18] angegebenen Modifikation bestimmt**.

Ergebnisse

Nach Aufnahme von 100 mg d, l-5-Hydroxy-Tryptophan per os schieden die Versuchspersonen innerhalb der ersten 4 Std durchschnittlich 14 mg 5-HIE im Harn aus. Auch während der 4. bis 12. Std nach 5-HTP-Zufuhr überschritten die 5-Hydroxy-Indolessigsäurewerte die in der gleichen Zeit unter Kontrollbedingungen eliminierten Mengen. Aus der in Abb. 1 dargestellten Kurve der 5-HIE-Ausscheidung geht somit hervor, daß zu diesem Zeitpunkt die Umsetzung der oral zugeführten Aminosäure zu 5-HIE so gut wie abgeschlossen sein dürfte. Unter Abzug des Leerwertes der 5-HIE-Exkretion errechneten wir eine mittlere Rückgewinnung von 42% — bezogen auf das l-Isomer — innerhalb von 24 Std. Umsetzung und Wiedergewinnung von 5-Hydroxy-Tryptophan erreichen demnach bei oraler und intravenöser Zufuhr [2,3,4,5,19] vergleichbare Werte. Nach rectaler 5-HTP-Applikation verlief dagegen die Kurve der 5-HIE-Ausscheidung wesentlich flacher und war vom Verhalten der Leerwerte nicht zu unterscheiden (Abb. 1). Die Rückgewinnung von 5-HTP betrug demnach unter diesen Bedingungen annähernd 0%. Zwischen den Probanden, die 5-HTP als Klysma erhielten, und denjenigen, denen die Aminosäure als rectale Dauertropfinfusion verabreicht wurde, bestanden hinsichtlich der 5-HIE-Werte keine Unterschiede.

5-Hydroxy-Tryptamin wurde zum größten Teil schon innerhalb der ersten 4 Std nach Ingestion als 5-HIE im Harn wiedergefunden (Abb. 2).

* Bezogen von der MANN Research Co., New York.

** Der Deutschen Hoffmann-La Roche AG danken wir für die freundliche Überlassung von Versuchsmengen von 5-HIE.

Im Vergleich zu den Belastungsversuchen mit 5-HTP nahm die Kurve der 5-HIE-Elimination nach Serotoninzufuhr zwischen der 4. und 12. Std einen flacheren Verlauf. Von der zugeführten Serotoninmenge fanden wir im 24-Std-Harn durchschnittlich etwa 60% als 5-HIE wieder. Wurde das Amin als Mikroklysma appliziert, so lag die Oxyindolessigsäure-Ausscheidung wesentlich niedriger als bei oraler 5-HT-Belastung ($P < 0{,}01$). Immerhin wurden jedoch größere 5-HIE-Mengen ausgeschieden als bei rectaler Applikation von 5-HTP. Die Wiederfindung be-

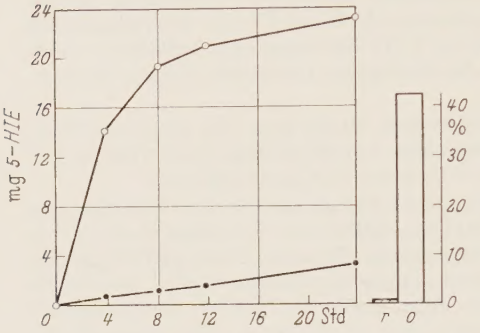

Abb. 1

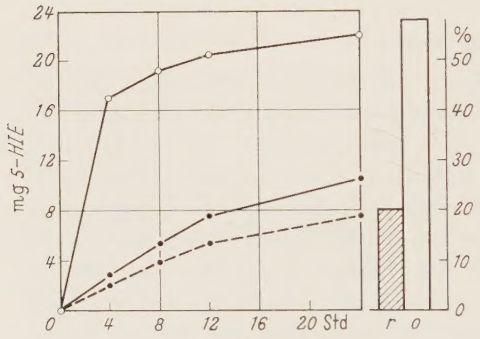

Abb. 2

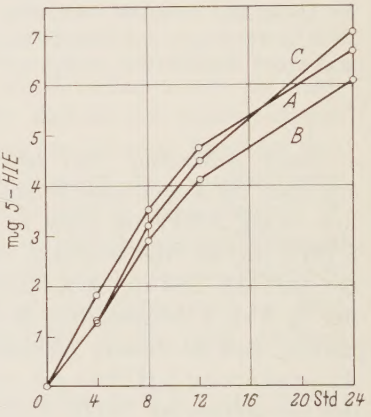

Abb. 3

Abb. 1. 5-Hydroxy-Indolessigsäure-Ausscheidung im Harn nach Zufuhr von 100 mg d,l-5-Hydroxy-Tryptophan per os ○——○ bzw. rectal ●——●. Rechts: Errechnete Wiedergewinnung (*r* bei rectaler, *o* bei oraler Applikation)

Abb. 2. 5-Hydroxy-Indolessigsäure im Harn nach Zufuhr von 75 mg 5-Hydroxy-Tryptamin-Kreatininsulfat per os ○——○ bzw. Verabreichung von 100 mg als Klysma (● - - - ● Gesamtkollektiv, ●——● bereinigt). Rechts: Errechnete Wiedergewinnung für orale Belastung und für rectale Applikation beim bereinigten Kollektiv

Abb. 3. 5-Hydroxy-Indolessigsäure-Ausscheidung im Harn nach Applikation Serotoninhaltiger Suppositorien mit unterschiedlicher Grundmasse (*A*, *B* und *C*)

trug für das Gesamtkollektiv etwa 13—14% der zugeführten Serotoninmenge; wurden nur die Fälle berücksichtigt, die das Klysma wenigstens mehr als 1 Std gehalten hatten, so errechnete sich eine Rückgewinnung von 20% der zugeführten Serotoninmenge als 5-HIE ($P < 0{,}05$ gegenüber der Leerausscheidung).

Schließlich prüften wir das Verhalten der 5-Hydroxyindolessigsäure-Ausscheidung im Harn bei 21 Fällen, denen das Amin in Suppositorien appliziert worden war. Diese Versuche sollten auch darüber Aufschluß

geben, ob 5-HT als „Leitsubstanz" zur Prüfung der rectalen Absorption aus verschiedenen Suppositorienmassen geeignet erschien. Im Vergleich zur Versuchsreihe mit Serotoninklysmen fanden wir nach Anwendung der aminhaltigen Zäpfchen niedrigere Hydroxyindolessigsäuremengen im Harn. Zwar lagen die Mittelwerte der 5-HIE-Exkretion bei den Suppositorien A und C etwas höher als bei den Zäpfchen mit der Grundmasse B (Abb. 3), doch konnten diese Unterschiede wegen der erheblichen individuellen Schwankungen nicht statistisch gesichert werden.

Ergänzend prüften wir die Freisetzung des Amins aus den Zäpfchen im Modellversuch. Der Nachweis des 5-HT erfolgte mit Hilfe der Dünnschichtchromatographie (Technik s. [17]). Wurden die Suppositorien 60 min lang mit 10 ml aqua dest. bei 37°C inkubiert und die Mischungen anschließend mehrfach geschüttelt, so konnte der 5-HT-Gehalt der Zäpfchen in der Lösung quantitativ wieder nachgewiesen werden. Bei Inkubationszeiten von 20 und 10 min und Abgießen der wäßrigen Phase ohne vorhergehendes Durchschütteln fanden wir dagegen bei den Suppositorien A und C zwischen 20 und 40%, bei B nur 5 bis 20% Serotonin in wäßriger Lösung vor.

Diskussion

Die biochemischen Prozesse der Synthese und des Abbaus von Serotonin sind seit einigen Jahren, vor allem auf Grund der Forschungen der Udenfriendschen Arbeitsgruppe, im wesentlichen geklärt[22,23,24,25] (Übersicht s. [8]). Zwar weiß man über den Mechanismus der Hydroxylierung des Tryptophans in 5-Stellung noch wenig; doch liegt hierin wahrscheinlich die spezifische Leistung der enterochromaffinen Zellen. Die Umwandlung von 5-Hydroxy-Tryptophan zu Serotonin erfolgt dagegen durch ein Enzym, das sich von der DOPA-Decarboxylase nicht unterscheiden läßt[26,27]. Das biogene Amin wird durch das Ferment Monoaminoxydase über eine Aldehydzwischenstufe zur 5-Hydroxy-Indolessigsäure abgebaut, die quantitativ im Harn ausgeschieden wird.

Unsere Versuche am Menschen ergeben, daß 5-Hydroxy-Tryptamin und seine Vorstufe 5-Hydroxy-tryptophan nach oraler Applikation rasch umgesetzt und in Form ihres wichtigsten Metaboliten im Harn wiedergefunden werden können (vgl. [3,6,11,13,15,20]). Da Serotonin-bedingte Reaktionen von seiten des Magen-Darmkanals und des Kreislaufs im Gegensatz zur intravenösen Zufuhr dieser Substanzen fehlen, darf man annehmen, daß hier die Inaktivierung bereits in der Mucosa des Magen-Darmtraktes und in der Leber erfolgt. Vergleicht man die Ergebnisse der Belastungen mit 5-HT und 5-HTP, so ergibt sich eine raschere und vollständigere Umsetzung zur 5-Hydroxy-Indolessigsäure bei Zufuhr von Serotonin. Ob dabei eine unterschiedliche Resorption beider Substanzen im Intestinaltrakt von Bedeutung ist, muß vorläufig offen bleiben. Möglicherweise werden diese Differenzen auch dadurch bedingt, daß ein Teil des zugeführten Hydroxy-Tryptophans im Organismus gespeichert bzw. nur bis zum Amin decarboxyliert wird.

Bei rectaler Applikation wird 5-Hydroxy-Tryptophan offenbar nicht resorbiert, wenn man von der wenig wahrscheinlichen Möglichkeit einer Speicherung der Aminosäure in der Mucosa des Dickdarms absieht. Auch das Serotonin wird nach unseren Versuchen von der Dickdarmschleimhaut nur zum Teil resorbiert. Schlechte Resorptionsquoten für die im Colon bakteriell gebildeten Amine und Indole erscheinen jedoch im Interesse einer geringeren Belastung der Entgiftungsmechanismen biologisch sinnvoll. Als Testsubstanz zur Prüfung der rectalen Resorption aus Suppositorien scheint sich 5-HT im Vergleich zu anderen Verbindungen[10] weniger zu eignen. In vitro-Experimente über die Freisetzung des Amins aus Suppositorien führten jedoch zu ähnlichen Resultaten wie die Untersuchung der 5-HIE-Exkretion nach Applikation der Zäpfchen beim Menschen. Allerdings weisen unsere Ergebnisse auf die Notwendigkeit hin, die Resorption von Pharmaka individuell zu prüfen, wenn sie in Zäpfchen verwendet werden sollen.

Zusammenfassung

Das Verhalten der Hydroxy-Indolessigsäure-Ausscheidung wurde nach oraler und rectaler Applikation von 5-Hydroxy-Tryptophan und Serotonin untersucht. Die Ergebnisse sprechen für eine rasche Resorption und Umsetzung dieser Substanzen nach ihrer Zufuhr per os. Eine rectale Absorption findet sich nur in geringem Maße.

Literatur

[1] Abderhalden, E., F. Frank u. A. Schittenhelm: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **63**, 215 (1909).
[2] Borges, F. J., J. K. Merlis and S. P. Bessman: J. clin. Invest. **38**, 715 (1959).
[3] Davidson, J., A. Sjoerdsma, L. N. Loomis and S. Udenfriend: J. clin. Invest. **36**, 1594 (1957).
[4] Donaldson, R. M., J. Arabehety and S. J. Gray: J. clin. Invest. **38**, 933 (1959).
[5] — and S. J. Gray: Gastroenterology **36**, 7 (1959).
[6] — I. Zaidman and S. J. Gray: Gastroenterology **38**, 937 (1960).
[7] Doubilet, H., and I. C. Ivy: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **39**, 129 (1939).
[8] Erspamer, V.: Fortschr. Arzneimittel-Forsch. **3**, 151 (1961).
[9] Gray, I., and M. Walzer: J. Allergy **11**, 245 (1939/40).
[10] Höbel, M., u. M. Talebian: Arzneimittelforsch. **10**, 653 (1960).
[11] Lewis, Ch. E.: Proc. Soc. exp. Biol. (N. Y.) **99**, 523 (1958).
[12] Rausch, F.: Dtsch. Arch. klin. Med. **193**, 217 (1948).
[13] Schmid, E.: Internat. Symposium MAOH, Luzern 1961; Chemotherapia **4**, 255 (1962).
— u. H. Kinzlmeier: Gastroenterologia (Basel) **91**, 248 (1959).
[14] — u. F. Scheiffarth: Arzneimittel-Forsch. **11**, 612 (1961).
[15] — L. Zicha u. F. Scheiffarth: Med. exp. (Basel) **2**, 266 (1960).
[16] — — J. Krautheim u. J. Blumberg: Med. exp. (Basel) **7**, 8 (1962).
[17] Schön, H., W. Ordnung u. E. Schmid: Klin. Wschr. **38**, 405 (1960).
[18] Schwemmle, K., E. Schmid, F. Scheiffarth, L. Zicha u. E. Schichor: Arznei-
[19] mittel-Forsch. **11**, 616 (1961).

[20] Sjoerdsma, A., L. Gillespie and S. Udenfriend: Lancet **1958/II**, 159. — Ann. New York Acad. Sci. **80**, 969 (1959).
[21] Tsunoo, S., T. Kawai and T. Mori: Jap. J. Pharmacol. **2**, 149 (1953).
[22] Udenfriend, S., E. Titus and H. Weissbach: J. biol. Chem. **216**, 499 (1955).
[23] — — — and R. E. Peterson: J. biol. Chem. **219**, 335 (1956).
[24] — H. Weissbach and B. B. Brodie: Meth. biochem. Anal. **6**, 95 (1958).
[25] Weissbach, H., B. G. Redfield and S. Udenfriend: J. biol. Chem. **229**, 953 (1957).
[26] Werle, E., u. D. Aures: Hoppe-Seylers Z. physiol. Chem. **316**, 55 (1959).
[27] Westermann, E., H. Balzer u. I. Knell: Naunyn-Schmiedeberg's Arch. exp. Path. Pharmak. **234**, 194 (1958).

Anschrift der Verfasser:
Medizinische Universitätsklinik, 852 Erlangen, Krankenhausstraße 12

Druck von J. P. Peter, Gebr. Holstein, Rothenburg o. d. Tbr.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. med. N. Henning für die freundliche Überlassung des Themas herzlich danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. E. Schmid, der mir bei der Durchführung der Arbeit seine wertvolle Unterstützung angedeihen ließ.

LEBENSLAUF

Ich wurde am 13. Juni 1937 in Nürnberg als drittes Kind meiner Eltern geboren. Mein Vater, Wilhelm Bauer, hatte damals in Nürnberg eine Schreinerwerkstätte. 1942 wurde ich zu einem Onkel nach Geslau bei Rothenburg ob der Tauber gebracht, wo ich auch die Volksschule besuchte. Von 1948 bis 1957 besuchte ich vom evang. Schülerheim aus das Gymnasium in Neustadt an der Aisch. Meine Eltern waren inzwischen nach Emskirchen evakuiert worden, wo mein Vater heute noch wohnt. Nach dem Abitur studierte ich die ersten 5 Semester an der Universität in Erlangen. Nach dem Physikum setzte ich mein Medizinstudium zunächst für 2 Semester in Freiburg im Breisgau, dann für 1 Semester in Hamburg fort. Zum Wintersemester 1961/62 kehrte ich wieder an die Universität Erlangen zurück und bestand nach 2 weiteren Semestern am 17. September 1963 das medizinische Staatsexamen.